Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Plester

Zur Technik der Thrombosierung von Innenohrgefäßen durch Wirkung magnetischer Kräfte auf zirkulierende Eisenpartikel

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
BERNHARD WINKLER
aus Aalen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547613_0024

Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Plester

Zur Technik der Thrombosierung von Innenohrgefäßen durch Wirkung magnetischer Kräfte auf zirkulierende Eisenpartikel

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
BERNHARD WINKLER
aus Aalen

1983

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. D. Plester
2. Berichterstatter:	Professor Dr. R. Jacob

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1.Einleitung	1
2. Material und Methoden	3
2.1. Material	3
2.1.1. Versuchstiere	3
2.1.2. Geräte	3
2.1.3. Chemikalien	4
2.2. Methoden	5
2.2.1. Nachweis von Carbonyleisenpulver-Partikeln im Blut	5
2.2.1.1. Mikroskopisch	5
2.2.1.2. Photometrisch	5
2.2.2. Versuche zur Wirkung von Stabmagneten auf Carbonyleisenpulver-Suspensionen	7
2.2.3. Tierversuche	8
3. Ergebnisse	10
3.1. Versuche zum photometrischen Nachweis von Carbonyleisenpulver	10
3.1.1. Messung der Extinktion unterschiedlicher Mengen Carbonyleisenpulver in Wasser	10
3.1.2. Photometrische Bestimmung von Carbonyleisenpulver in Patientenblut	12
3.2. Versuche zur Wirkung von Stabmagneten auf strömende Carbonyleisenpulver-Suspensionen	14
3.3. Tierversuche	17
3.3.1. Nachweis von Carbonyleisenpulver im Blut der Versuchstiere nach intracardialer Injektion	17
3.3.1.1. Mikroskopischer Nachweis	17
3.3.1.2. Photometrischer Nachweis	17
3.3.2. Histologischer Nachweis von Thromben in Halsgefäßen	18

UNIV. LEIDEN 1991

Seite

3.3.3. Nachweis von Carbonyleisenpulver im in toto geschnittenen Kopf 20

3.3.4. Histologischer Nachweis von Thromben im Innenohr 20

4. Diskussion der Ergebnisse 23

4.1. Ergebnisse der Photometrieversuche 23

4.2. Ergebnisse der Versuche zum Magnetismus 24

4.3. Ergebnisse der Tierversuche 24

5. Zusammenfassung 26

6. Literaturverzeichnis 27

1. Einleitung

Bei einigen Erkrankungen des Innenohres, wie zum Beispiel beim Hörsturz, wird eine Hypoxie als pathogenetischer Faktor diskutiert. Um die Ursachen und das Wesen dieser und ähnlicher Erkrankungen untersuchen zu können, ist es notwendig, ein Verfahren zu finden, bei dem ohne Zerstörungen am Innenohr hier eine Hypoxie am Versuchstier erzeugt werden kann.

MEYERS (1963) beschreibt die Anwendung von Eisenpartikeln mit 1 - 3 µm Durchmesser als Kontrastmittel für Röntgenuntersuchungen, wobei er die Partikel durch Einwirkung starker Magnetfelder in den darzustellenden Gefäßabschnitten anreicherte. Er verfolgte auch den Verbleib der Teilchen im Körper der Versuchstiere über längere Zeit. Hierdurch wurde ALKSNE (1965, 1966) dazu veranlaßt, bei Hunden Versuche durchzuführen, nach Injektion von Carbonyleisenpulver-Suspensionen unter Anwendung von Magnetfeldern Gefäßverschlüsse zu erreichen. Er beschreibt auch die klinische Anwendung der Methode, um stereotaktisch intracranielle Aneurysmen zu verschließen. Zu diesem speziellen Zweck wurden dem Carbonyleisenpulver von RAND und MOSSO (1973) sowie ALKSNE und SMITH (1977) Zusatzstoffe, wie Silikon und Acrylat, beigegeben. Umfangreiche Untersuchungen mit der Technik des Gefäßverschlusses führte ALBRECHTSSON (1977) an Kaninchen durch. Er verfolgte vor allem das Schicksal der entstandenen Thromben und beschreibt eine Methode zur Eichung der verwendeten Magnete.

Die vorliegende Untersuchung hatte das Ziel, zunächst einen Test zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Carbonyleisenpulver im Blut zu entwickeln. Zudem sollte ein Verfahren geschaffen werden, um die Wirkung der verwendeten Magnete auf strömende Carbonyleisenpulver-Suspensionen ohne großen apparativen Aufwand überprüfen zu können.

Schließlich war es das Ziel, im Tierversuch zu überprüfen, ob es möglich ist, beim Meerschweinchen nach Injektion von Carbonyleisenpulver-Suspension unter Anwendung magnetischer Kräfte im Innenohr Thromben zu erzeugen und diese histologisch nachzuweisen.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere fanden Meerschweinchen der Züchtung Schmid, 7031 Holzgerlingen, Verwendung. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere betrug 300 - 350 g.

2.1.2. Geräte

Stabmagnete, 3 x 15 mm, Fa. Deutsche Edelstahlwerke, Magnetfabrik, D-4600 Dortmund 41
Messinghalter für Stabmagnete (modifizierter Kleintier-Kopfhalter der HNO-Klinik Tübingen)
Feinwaage, Fa. Sartorius, D-3400 Göttingen
Einmalspritzen, Fa. Braun, D-3508 Melsungen
100-ml-Spritze, Fa. Pfau-Wanfried, D-3508 Melsungen
Einmalkanülen, Gr. 17, Fa. Braun, D-3508 Melsungen
Venenkatheter 1¼", Fa. Jelco, Raritan, N.J., USA 08869
Spektral-Photometer PMQ II, Fa. Zeiss, D-7082 Oberkochen
Küvetten Nr. 105-Q I, Fa. Bachofer, D-7410 Reutlingen
Zentrifuge, Fa. Heraeus-Christ, D-3360 Osterode
Pipetten, 5-1000 µl, Fa. Eppendorf, D-2000 Hamburg
Ultraschallgerät Sonorex, Fa. Bandelin Electronic, D-1000 Berlin 45
Operationsmikroskop OpMi 1-H, Fa. Zeiss, D-7082 Oberkochen
Mikro-Manipulator RP 5, Fa. Brinkmann, D-6800 Mannheim
Kapillaren "Microcaps 2 µl", Fa. Drummond Scientific Co. USA
Kunststoff Paladur, Fa. Kulzer, D-6380 Bad Homburg
Silikonschläuche, Fa. Kästner, D-7400 Tübingen

2.1.3. Chemikalien

Carbonyleisenpulver Typ HFF, Fa. BASF,
D-6700 Ludwigshafen
Rheomacrodex 10%, Fa. Knoll, D-6700 Ludwigshafen
Essigsäure 3%, Fa. Merck, D-6100 Darmstadt
Urethan-Lösung 40g/100ml, Fa. Merck, D-6100 Darmstadt
Natriumcitrat-Lösung 3,13%, Fa. Braun,
D-3508 Melsungen
Karnowsky-Lösung (2% Paraformaldehyd + 2,5%
Glutaraldehyd in 0,1m Cacodylat-Puffer)
Fa. Merck, D-6100 Darmstadt
Cal-Ex Decalcifying Solution, Fa. Fisher Scientific
Company, Fair Lawn, New Jersey 07410, USA

2.2. Methoden

2.2.1. Nachweis von Carbonyleisenpulver-Partikeln im Blut

2.2.1.1. Mikroskopisch

Carbonyleisenpulver-Partikel sind an ihrer sphärischen Gestalt lichtmikroskopisch gut zu erkennen. Da der Durchmesser der Teilchen durchschnittlich bei 1,7 - 2,3 µm liegt, können in den mit 10%igem Paraformaldehyd fixierten Blutausstrichen die Erythrozyten zum Größenvergleich herangezogen werden. Eine quantitative Beurteilung des Carbonyleisenpulver-Gehaltes ist so jedoch nicht möglich.

Der Blutausstrich diente vor allem als schnell durchzuführender Test, ob die intracardiale Injektion erfolgreich war und somit die Fortsetzung des Experimentes sinnvoll wäre.

2.2.1.2. Photometrisch

Um die Menge des im Blut vorhandenen Carbonyleisenpulvers bestimmen zu können, fand ein photometrisches Nachweisverfahren Verwendung. Dieses beruht darauf, daß sich die Carbonyleisenpulver-Partikel mittels Ultraschall in einem flüssigen Medium sehr fein verteilen lassen und dadurch eine Trübung der Suspension auftritt. Um die Zuverlässigkeit der Methode prinzipiell nachzuweisen, wurde zunächst eine Versuchsreihe mit Wasser als Trägermedium durchgeführt. Hierbei wurden definierte Mengen einer wässrigen Carbonyleisenpulver-Suspension (0,1g/ml) zu entsprechenden Wassermengen pipettiert, so daß 1ml Suspension mit bekanntem Gehalt an Carbonyleisenpulver zur Verfügung stand. Die Extinktion ließ sich sodann nach dem Beschallen gegen Wasser messen.

Anschließend erfolgten Messungen mit Patientenblut. Hierbei wurden jeweils 50 µl heparinisiertes Blut durch Versetzen mit 3%iger Essigsäure im Verhältnis 1:20 hämolysiert, dann mit einer entsprechenden Menge wässriger Carbonyleisenpulver-Suspension (0,1 g/ml Wasser) versetzt, bei niedriger Drehzahl zentrifugiert (Carbonyleisenpulver setzt sich sehr schnell ab), der Überstand abgegossen, der Bodensatz mit 1 ml Wasser aufgeschwemmt und beschallt. Dann wurde nochmals bei niedriger Drehzahl (max. 1000 U/min) zentrifugiert, vom Überstand 0,5 ml abpipettiert, die restlichen 0,5 ml erneut beschallt und bei 578 nm die Extinktion gegen den vorher abpipettierten Überstand gemessen. Dieses Vorgehen hat folgenden Grund: Bedingt durch die Hämolyse liegen in der Probe denaturierte Proteine mit rotbrauner Eigenfarbe vor. Durch das erstmalige Beschallen werden diese Proteine auf die gesamte Probe verteilt und sie setzen sich, wenn das anschließende Zentrifugieren schonend erfolgt, nicht wieder zusammen mit dem Carbonyleisenpulver ab. Dadurch ist die rotbraune Eigenfarbe auch im Überstand, gegen den die photometrische Messung erfolgt, vorhanden. Außerdem ließ sich am Spektralphotometer ermitteln, daß der durch diese Eigenfarbe bedingte Fehler bei 578 nm am geringsten ist.

2.2.2. Versuche zur Wirkung von Stabmagneten auf Carbonyleisenpulver-Suspensionen

Die Wirkung der zu verwendenden Stabmagnete auf Carbonyleisenpulver-Suspensionen sollte unter Bedingungen, die dem Tierexperiment möglichst nahe liegen, im Labor untersucht werden. Dazu wurde zunächst ein Bündel aus 176 Glaskapillaren (Innendurchmesser ca. 250 μm), das im Querschnitt annähernd ein Quadrat mit 1 cm Seitenlänge darstellt, hergestellt. Die Kapillaren ließen sich so mit Kunststoff zusammenfassen, daß von beiden Seiten her leicht ein Silikonschlauch angeschlossen werden konnte. Vorrats- und Auffanggefäß waren in der Höhe variabel, so daß die Strömungsgeschwindigkeit verändert werden konnte. Der Ansatz des zylindrischen Stabmagneten am Bündel erfolgte so, daß er tangential zur Verlängerung einer Seitenfläche des Bündels zu liegen kam. Eine wässrige Carbonyleisenpulver-Suspension mit der Konzentration $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ g/ml fand Verwendung, da dies in der Größenordnung der bei den zuvor durchgeführten Tierversuchen photometrisch gemessenen Blutkonzentration liegt.

Die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit in den Kapillaren erfolgte nach den folgenden Gleichungen (WITZLEB 1977).

Die Abkürzungen bedeuten:

V = Volumen der Suspension im Auffanggefäß
t = Versuchsdauer
$\dot{V}$ = Stromstärke, im System überall gleich groß
$\bar{v}$ = lineare Strömungsgeschwindigkeit in den Kapillaren
Q = Querschnittsfläche einer Kapillare im Bündel
r = Radius einer Kapillare
n = Anzahl der Kapillaren

Als Orientierung dienten die Angaben von WITZLEB (1977), wonach die mittlere Strömungsgeschwindigkeit in kleinen bis sehr kleinen Arterien ca. 2 - 10 cm/s beträgt.

Gleichungen:

$$\dot{V} = \frac{V}{t}$$

$$\dot{V} = \bar{v} \cdot Q = \bar{v} \cdot \pi \cdot r^2$$

$$\bar{v} = \frac{\dot{V}}{Q} = \frac{\dot{V}}{\pi \cdot r^2}$$

lineare Strömungsgeschwindigkeit für ein System, bestehend aus einer Kapillare

$$\bar{v} = \frac{\dot{V}}{n \cdot Q} = \frac{\dot{V}}{n \cdot \pi \cdot r^2}$$

lineare Strömungsgeschwindigkeit für ein System, bestehend aus n Kapillaren

im vorliegenden System (n = 176, r = 125 μm) gilt:

$$\bar{v} = \frac{\dot{V}}{0{,}0864} \quad \frac{cm}{s}$$

2.2.3. Tierversuche

Als Narkotikum fand Urethan Verwendung (40 g/100 ml) und zwar je nach Größe des Tieres 1,0 - 1,1 ml ca. 1 Stunde vor Operationsbeginn intraperitoneal.

Die Carbonyleisenpulver-Suspension wurde erst unmittelbar vor der Injektion hergestellt und beschallt, um sicherzustellen, daß die Partikel nicht etwa verklumpten und damit eine Passage durch kleine Gefäße unmöglich wäre. Nach anfänglichen Mißerfolgen wurde die Dosis auf 840 mg Carbonyleisenpulver in 2 ml Rheomacrodex pro Tier festgelegt. Die Injektion erfolgte intracardial durch Blindpunktion mit Hilfe eines Venenkatheters. Danach wurde ca. 10 Minuten gewartet, um eine gleichmäßige Verteilung des Pulvers sicherzustellen.

War eine photometrische Bestimmung des Carbonyleisenpulver-Gehaltes im Blut geplant, wurde anschließend eine Halsvene dargestellt und hieraus ca. 1,5 ml Blut entnommen, das mit 0,2 ml Citrat stabilisiert wurde. Dieses Blut ließ sich, wie vorne für Patientenblut beschrieben, weiterbehandeln.

Bei 2 Tieren wurde sodann eine weitere Vene im Halsbereich dargestellt und hieran der Magnet angesetzt.

Bei 8 Tieren erfolgte durch einen ca. 3 cm langen retroauriculären Hautschnitt und Trepanation des Schläfenbeines die Eröffnung der Bulla tympanica. Auch wenn keine photometrische Bestimmung geplant war, wurde in jedem Fall von dem hierbei oberflächlich austretenden Blut ein Ausstrich angefertigt und auf Carbonyleisenpulver-Partikel durchgemustert. Sodann wurde mit Hilfe des Mikro-Manipulators der in eine Messingklemme eingesetzte Magnet unter operationsmikroskopischer Kontrolle möglichst nahe der Basalwindung der Cochlea plaziert, in den meisten Fällen ließ er sich dieser direkt aufsetzen. Hierzu wurden 2 - 3 der jeweils 15 mm langen Stabmagnete, jeweils Nordpol an Südpol, aneinandergesetzt, wodurch das System eine gewisse Elastizität erhielt. Nach Entfernung des Magneten wurde sofort das runde Fenster eröffnet, der Stapes mit Fußplatte entfernt, austretende Perilymphe abgesaugt, und die Fixierung mit Karnowsky-Lösung durchgeführt. Die selbe Maßnahme erfolgte noch intra vitam an der Cochlea der Gegenseite, worauf beide Felsenbeine in toto herausgenommen und fixiert werden konnten.

Bei weiteren 2 Tieren wurden die Meerschweinchen-Schädel insgesamt abgetrennt, in flüssiger Luft gefroren, anschließend geschnitten und unter dem Operationsmikroskop auf Eisenpartikel durchsucht.

3. Ergebnisse

3.1. Versuche zum photometrischen Nachweis von Carbonyleisenpulver

3.1.1. Messung der Extinktion unterschiedlicher Mengen Carbonyleisenpulver in Wasser

Es wurden aus einer wässrigen Carbonyleisenpulver-Suspension (0,1 g/ml) und Wasser Proben mit 1 ml Volumen hergestellt und die Extinktion gegen Wasser gemessen, und zwar bei jeder Konzentration mit 3 verschiedenen Proben.

Tabelle 1:
Volumen der Proben = 1 ml

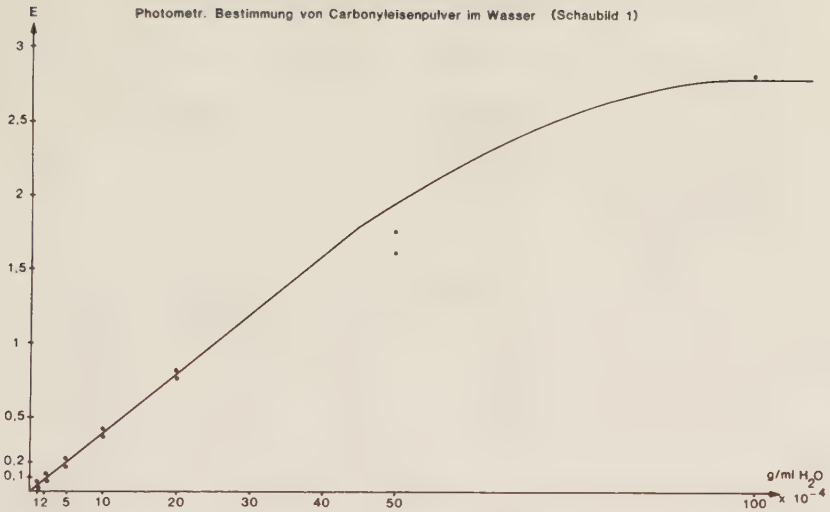
Menge Carbonyleisen-pulver-Suspension (0,1 g/ml) µl	Extinktion Probe 1	Probe 2	Probe 3
5	0,203	0,195	0,210
10	0,410	0,399	0,410
20	0,820	0,795	0,780
50	1,62	1,76	1,76
100		2,8	
200		2,8	
500		2,8	

Dann wurden 5 µl der Suspension auf 2 und 4 ml Wasser zugegeben, das heißt die Konzentration von Carbonyleisenpulver in den Proben nochmals halbiert.

Volumen der Proben ml	Extinktion Probe 1	Probe 2	Probe 3
2	0,085	0,110	0,09
4	0,035	0,05	0,04

Werte <10 µl Suspension/ml Wasser sind schwierig zu messen, da die Extinktion rapide abfällt. (Abb. 1).

Abbildung 1:


E
Photometr. Bestimmung von Carbonyleisenpulver im Wasser (Schaubild 1)
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0,2
0,1
1 2 5 10 20 30 40 50 100
g/ml H_2O
x 10^{-4}

3.1.2. Photometrische Bestimmung von Carbonyleisenpulver im Patientenblut

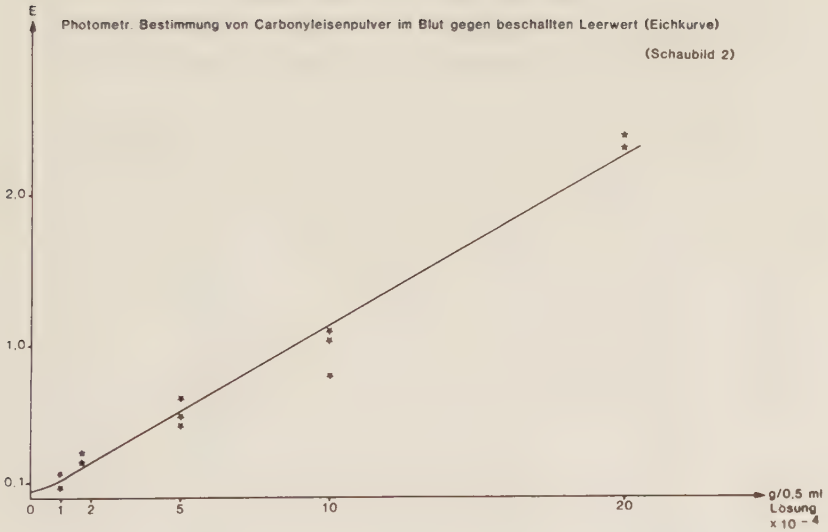
Hier wurden jeweils 50 µl Patientenblut mit unterschiedlichen Mengen wässriger Carbonyleisenpulver-Suspension versetzt und die Extinktion nach entsprechender Vorbehandlung (Hämolysieren und mehrmaliges Zentrifugieren) gegen den vorher abpipettierten Überstand gemessen. Bei 2 Versuchsreihen wurden vor der Messung größere Mengen Wasser (als die mindestens erforderlichen 0,5 ml) zugegeben, um niedrigere Konzentrationen zu erreichen.

Tabelle 2:

zupipettierte Menge Carbonyleisenpulver-Suspension (0,1 g/ml)	zur Photometrie beschallt in	Extinktion		
µl	ml Wasser	Probe 1	Probe 2	Probe 3
5	2,5	0,13	0,085	0,082
5	1,5	0,21	0,21	0,28
5	0,5	0,54	0,49	0,65
10	0,5	1,05	1,1	0,8
20	0,5	2,4	2,4	2,3
50	0,5		∞	
0	0,5	0,08	0,045	0,04

Die daraus hergestellte Abbildung 2 diente als Eichkurve für die photometrischen Messungen bei den Tierversuchen.

Abbildung 2:


E
Photometr. Bestimmung von Carbonyleisenpulver im Blut gegen beschallten Leerwert (Eichkurve)
(Schaubild 2)
2.0
1.0
0.1
0
1
2
5
10
20
g/0,5 ml
Lösung
x 10 - 4

3.2. Versuche zur Wirkung von Stabmagneten auf strömende Carbonyleisenpulver-Suspensionen

An einem Glaskapillarenbündel ließ sich nach Anlegen der auch in den Tierversuchen verwendeten Magnete die Ausdehnung des angehäuften Carbonyleisenpulvers messen. Konzentration und Strömungsgeschwindigkeit wurden so gewählt, daß sie dem Tierexperiment möglichst nahe kamen.

Tabelle 3:

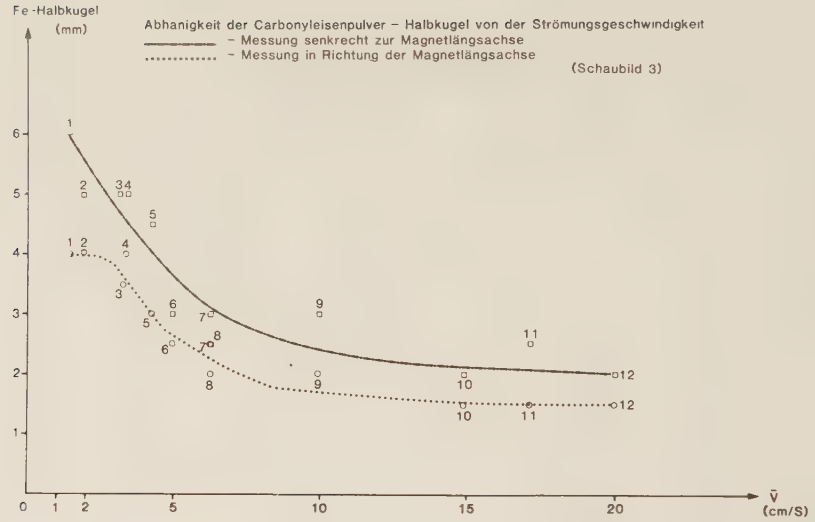
Durchflußmenge: 310 ml Suspension = const.
Konzentration der Suspension:
0,15 mg Carbonyleisenpulver/ml Wasser = const.
$\dot{V}$ = Stromstärke
$\bar{v}$ = lineare Strömungsgeschwindigkeit in den Kapillaren

Messung Nr.	Durchfluß-zeit	Carbonyleisenpulver-Halbkugel		$\dot{V}$	$\bar{v}$
		axial	lateral		
	min	mm	mm	ml/s	cm/s
1	40	4	6	0,13	1,49
2	30	4	5	0,17	1,97
3	18½	3,5	5	0,28	3,24
4	18	4	5	0,29	3,36
5	14	3	4,5	0,37	4,28
6	12	2,5	3	0,43	4,97
7	9½	2,5	3	0,54	6,25
8	9½	2	2,5	0,54	6,25
9	6	2	3	0,86	9,95
10	4	1,5	2	1,29	14,90
11	3½	1,5	2,5	1,48	17,12
12	3	1,5	2	1,72	19,91

Axiale Messung:
In Verlängerung der Längsachse des Magneten
Laterale Messung:
Senkrecht zur Längsachse des Magneten

Es entstanden halbkugelförmige Anhäufungen von Carbonyleisenpulver an den Stellen des Kapillarbündels, wo der Magnet angesetzt wurde. Diese "Halbkugeln" wurden dann in 2 Ebenen - axial und lateral - ausgemessen. Bei lateraler Messung ist zu beachten, daß von der Mitte des Magneten gemessen wurde, das heißt bei einem Magnetdurchmesser von 3 mm sich dadurch ein Sockel von 1,5 mm auf der entsprechenden Koordinate ergibt. Bei axialer Messung ist auch bei leerem Kapillarsystem, weil durch den direkt anliegenden Stabmagneten eine Lichtbrechung auftritt, eine Halbkugel mit 1,5 mm maximaler Länge meßbar. (Abbildung 3).

Abbildung 3:


Fe-Halbkugel
(mm)
Abhanigkeit der Carbonyleisenpulver – Halbkugel von der Strömungsgeschwindigkeit
– Messung senkrecht zur Magnetlängsachse
– Messung in Richtung der Magnetlängsachse
(Schaubild 3)
6
5
4
3
2
1
0
1
2
5
10
15
20
v̄
(cm/S)

3.3. Tierversuche

3.3.1. Nachweis von Carbonyleisenpulver im Blut der Versuchstiere nach intracardialer Injektion

3.3.1.1. Mikroskopischer Nachweis

Ein Ausstrich wurde vor der Injektion von Carbonyleisenpulver angefertigt, bei einem weiteren wurde der Probe Carbonyleisenpulver-Suspension zupipettiert. Diese beiden Ausstriche wurden in Zweifelsfällen zum Vergleich herangezogen. So mußte lediglich bei einem Versuchstier der 5-10 Minuten nach der Injektion angefertigte Ausstrich als zweifelhaft bezüglich seines Gehaltes an Carbonyleisenpulver beurteilt werden.

3.3.1.2. Photometrischer Nachweis

Der photometrische Nachweis wurde bei 7 Versuchstieren durchgeführt, bei einem Versuchstier wurde zu Vergleichszwecken vor der Injektion von Carbonyleisenpulver Blut abgenommen und photometriert.

Tabelle 4:

Tier Nr.	Blutmenge ml	Extinktion	Eisenkonzentration im Blut lt. Abb. 2 g/ml · 10^{-4}
2/3	1,5	0,27	1,53
3/1	1,5	0,25	1,47
4/2	1,5	0,25	1,47
6/1	0,7	0,22	2,78
6/3	0,4	0,15	3,12
7/2	1,2	0,24	1,75
9/1	1,5	0,27	1,53
4/3	1,5	0,09	0,7

(Bei diesem Tier wurde das Blut vor der Carbonyleisenpulver-Injektion abgenommen)

Zu berücksichtigen ist, daß das Carbonyleisenpulver sich bei sehr niedrigen Konzentrationen rasch absetzt, das heißt die Extinktion schnell abfällt und daher schwierig abzulesen ist. An diesem Abfall, der, außer bei Tier 4/3, in jeder der gemessenen Proben beobachtet wurde, ist jedoch gut zu verifizieren, daß überhaupt Carbonyleisenpulver in der Probe vorhanden ist.

3.3.2. Histologischer Nachweis von Thromben in Halsgefäßen

Bei 2 Tieren wurde der Magnet für 30 bzw. 60 Minuten an einer Halsvene angesetzt. Hier waren bereits nach ca. 10 Minuten im Operationsmikroskop Anzeichen für eine Akkumulation von Carbonyleisenpulver in Form einer Dunkelfärbung und Verdickung der Vene in der Umgebung des Magneten zu erkennen. Die histologische Aufarbeitung dieser 2 Venen ergab eine deutliche Anhäufung von Carbonyleisenpulver im Gefäßlumen.(Abb. 4). Beim Schneiden dieser Gefäße waren die Mikrotom-Messer durch die Eisenpartikel schnell zerstört.

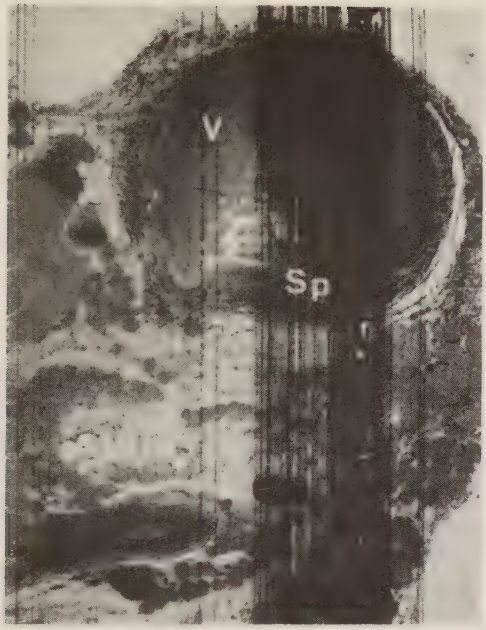


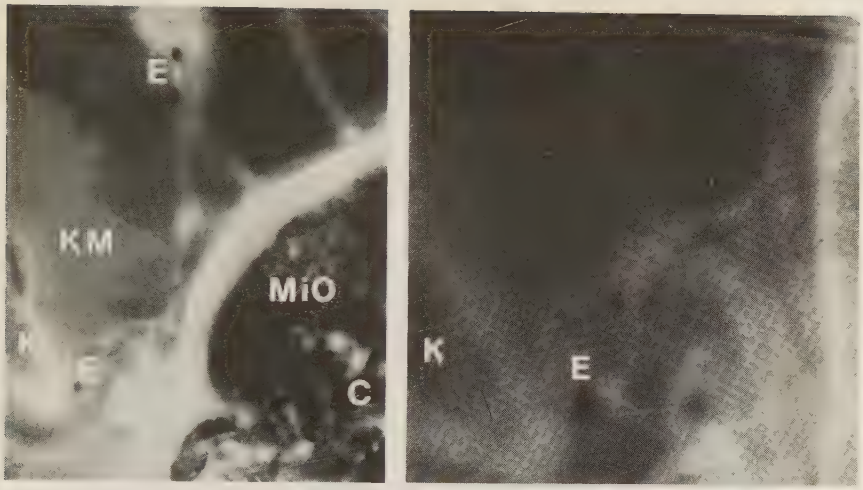
Abbildung 4: Versuch eines Semidünnschnittes durch einen Thrombus in der Halsvene (V), der Eisenpartikel enthält. Die Eisenteilchen hinterlassen im zur Einbettung benutzten Araldit deutliche Spuren (Sp).

3.3.3. Nachweis von Carbonyleisenpulver im in toto geschnittenen Kopf

Hierbei ließen sich in einiger Entfernung von der Cochlea, zum Beispiel in Gefäßen innerhalb der Kaumuskulatur, mehrere Ansammlungen von Carbonyleisenpulver feststellen. Diese Ansammlungen wurden nur auf der Seite des Magnetansatzes vorgefunden. (Abb. 5)

3.3.4. Histologischer Nachweis von Thromben im Innenohr

Es wurde die Schnecke eines Versuchstieres untersucht, bei dem der Magnet 5½ Stunden der Basalwindung der Cochlea auflag. Es fand sich hier in einem Gefäßlumen eine Zellansammlung mit charakteristischen Hohlräumen, die der Größe der Eisenpartikel entsprachen. In diesen Hohlräumen lagen kleine, nicht lichtdurchlässige Partikel, die als Reste von Carbonyleisenpulver-Teilchen angesehen wurden. Es muß davon ausgegangen werden, daß diese Partikel durch die Entkalkung in einer salzsäurehaltigen Lösung fast vollständig in lösliches Eisenchlorid umgewandelt wurden, was die sehr stark reduzierte Größe dieser Teilchenreste erklärt. Sie finden sich in den Präparaten nur in der Zellansammlung innerhalb des Gefäßlumens und liegen etwas außerhalb der Schärfenebene der Zellen. Die Partikel wurden wegen ihrer durch die teilweise Auflösung beim Entkalken bedingten geringen Größe offensichtlich beim Schneiden etwas zur Seite gedrückt. So ließ sich auch am Mikrotom-Messer keine Beschädigung, wie beim Schneiden der Halsvenen, feststellen. (Abb. 6).



a b

Abbildung 5: Übersicht (a) und Ausschnittsvergrößerung (b) einer Aufsicht auf das Mittelohr (MiO) und die Kaumuskulatur (KM) eines gefroren geschnittenen Meerschweinchenkopfes, bei dem nach der Injektion der Eisenpartikel für 30 Minuten der Magnet an die Cochlea (C) gehalten wurde. Es finden sich Eisenanhäufungen (E) in Gefäßen, die innerhalb der Kaumuskulatur liegen. K = Unterkiefer

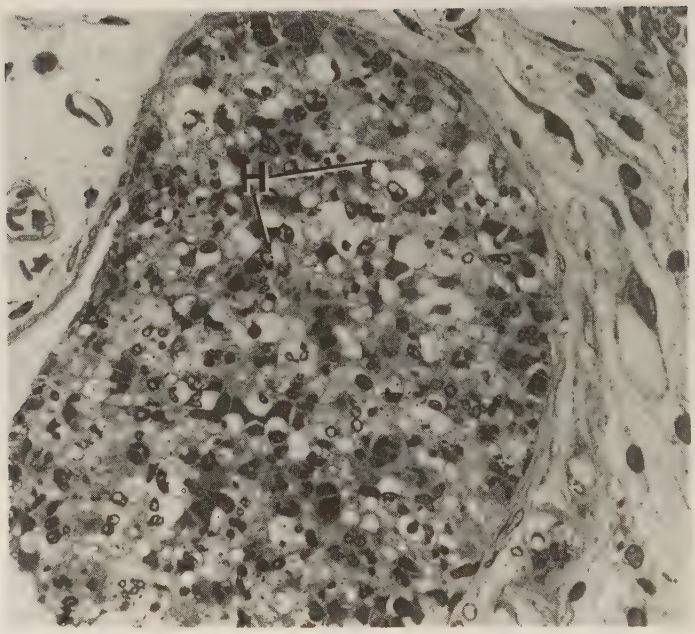


Abbildung 6: Semidünnschnitt durch einen Thrombus im Innenohr nach Entkalkung mit einer salzsäurehaltigen Lösung. Häufig lassen sich innerhalb von runden Hohlräumen (H) kleine dunkle Partikel erkennen.

4. Diskussion der Ergebnisse

4.1. Ergebnisse der Photometrieversuche

Die Messung unterschiedlicher Mengen Carbonyleisenpulver in Wasser zeigt eine Proportionalität von Extinktion und Konzentration im Bereich von 0 bis 4 mg/ml Wasser. In diesem Bereich kann die photometrische Bestimmung also in Wasser zuverlässig durchgeführt werden. Es muß jedoch sofort nach dem Beschallen gemessen werden, da sich das Carbonyleisenpulver in der Suspension rasch absetzt. Bei den photometrischen Messungen im Patientenblut wurden die Proben zur Erhöhung der Genauigkeit bei sehr kleinen Konzentrationen nur mit 0,5 ml Wasser hergestellt. Hier ist die Proportionalität bis zur Konzentration von ca. 2 mg/0,5 ml Wasser vorhanden, was sich mit obigen Ergebnissen deckt. Das heißt, daß in diesem Bereich mit hinreichender Genauigkeit eine Eichkurve erstellt werden konnte, die zur quantitativen Bestimmung des im Blut der Versuchstiere vorhandenen Carbonyleisenpulvers diente. Hierbei lassen sich jedoch nur dann reproduzierbare Ergebnisse erzielen, wenn durch Hämolysieren und mehrmaliges Zentrifugieren der Einfluß der Blutfarbstoffe auf die Messung weitestgehend eliminiert wird. Außerdem leidet durch das Absinken des Eisens in der Küvette während der Photometrie die Genauigkeit der Bestimmung. Eine exakte quantitative Analyse des Eisens wäre mit chemischen Reaktionen möglich. Für den hier gewünschten Zweck, eine Aussage über den Gehalt des Blutes an Eisenpartikeln zu ermöglichen, ist die Genauigkeit der hier beschriebenen Technik ausreichend.

4.2. Ergebnisse der Versuche zum Magnetismus

Aus den Versuchen zur Wirkung von Stabmagneten auf strömende Carbonyleisenpulver-Suspensionen geht hervor, daß es möglich ist, durch Stabmagnete eine Anhäufung von Carbonyleisenpulver in einer strömenden Flüssigkeit zu erreichen und diese durch Verwendung von Glaskapillaren sichtbar zu machen. Die durchgeführten Messungen zeigen, daß mit diesem einfachen Aufbau jedoch nur sehr grobe Anhaltspunkte über die räumliche Ausdehnung und die Stärke des Magnetfeldes gewonnen werden können. Dies liegt insbesondere an den durch die Glaskapillaren bedingten Lichtbrechungseffekten. Mit den mathematisch definierten Versuchen von ALBRECHTSSON et al. (1977) lassen sich diese Versuche daher nur bedingt vergleichen. Sie bieten nicht mehr als einen groben Überblick über die Reichweite der Felder der verwendeten Magnete. Insbesondere lassen sich damit verschiedene Magnete in ihren Feldstärken vergleichen und feststellen, ob die gewünschte Wirkung auf Carbonyleisenpulver in Kapillaren vorhanden ist, wenn eine bestimmte Strömungsgeschwindigkeit vorliegt.

4.3. Ergebnisse der Tierversuche

Lediglich bei ca. einem Drittel der narkotisierten Versuchstiere konnten die Experimente wie geplant zu Ende geführt werden. Insbesondere kurz nach der intracardialen Injektion fielen zahlreiche Tiere durch Atemstillstand aus.

Das Ergebnis der Versuche an Halsvenen kann als Bestätigung der Ergebnisse von MEYERS (1963), ALKSNE et al. (1965; 1966; 1977) und ALBRECHTSSON (1977) angesehen werden, daß durch magnetische Kräfte eine Akkumulation von Carbonyleisenpulver in einem bestimmten Gefäßabschnitt erreicht werden kann.

Die Schnitte ganzer Meerschweinchen-Schädel zeigen, daß bezüglich der Lokalisation der Carbonyleisenpulver-Ansammlung die räumliche Ausdehnung des Magnetfeldes beachtet werden muß. Der Wirkungsraum dieses Feldes scheint beim Versuchstier wesentlich größer zu sein, als beim Laborversuch mit Glaskapillaren. Dies liegt sicherlich daran, daß die Strömungsverhältnisse beim lebenden Tier sich nicht ohne weiteres in einem Glaskapillarenbündel reproduzieren lassen. Das bedeutet, daß beim Tierversuch damit gerechnet werden muß, daß die Blutzufuhr zum Innenohr unter Umständen schon weit außerhalb der Schnecke blockiert wird.

Die Präparate von der Cochlea zeigen jedoch, daß es auch innerhalb der Schnecke zu einer Thrombusbildung durch die Ansammlung von Eisenpartikeln kommt. Hier ist durch eine Elementanalyse noch zu klären, daß es sich bei den vorgefundenen Partikeln tatsächlich um Reste von Carbonyleisenpulver-Teilchen handelt. Der histologische Befund spricht eindeutig für einen durch Anreicherung von Eisenteilchen hervorgerufenen Thrombus.

5. Zusammenfassung

Zunächst wird eine Methode zur photometrischen Bestimmung des Carbonyleisenpulver-Gehaltes im Blut dargestellt. Sodann ist ein Verfahren beschrieben, mit dem sich die Wirkungen von Stabmagneten auf strömende Carbonyleisenpulver-Suspensionen vergleichen lassen. Schließlich wird in 12 Tierversuchen nachgewiesen, daß nach Injektion von Carbonyleisenpulver-Suspension durch magnetische Kräfte eine Ansammlung von Eisenpartikeln und eine Thrombusbildung in Gefäßen, speziell im Kopf- und Innenohrbereich, erreicht werden kann.

6. Literaturverzeichnis

ALKSNE, J.F. and A.G. FINGERHUT: Magnetically controlled metallic thrombosis of intracranial aneurysms
Bull. Los Angeles neurol. Soc. 30, 153 - 155; 1965

ALKSNE, J.F., A. FINGERHUT and R. RAND: Magnetically controlled metallic thrombosis of intracranial aneurysms
Surgery 60, 212 - 218; 1966

ALKSNE, J.F. and R.W. SMITH: Iron-acrylic compound for stereotaxic aneurysm thrombosis
J. Neurosurg. 47, 137 - 141; 1977

ALBRECHTSSON, U., G.A. HANSSON and T. OLIN: Vascular occlusion with a ferromagnetic particle suspension
Acta Radiologica Diagnosis 18, 279 - 291; 1977

MEYERS, P.H., F. CRONIC and CH. M. NICE JR.: Experimental approach in the use and magnetic control of metallic iron particles in the lymphatic and vascular system of dogs as a contrast and isotopic agent
Am. J. Roentgenol. 90, 1068 - 1077; 1963

RAND, R.W. and J.A. MOSSO: Treatment of cerebral aneurysms by stereotactic ferromagnetic silicone thrombosis
Bull. Los Angeles neurol. Soc. 38, 21 - 23; 1973

WITZLEB, E.: Funktionen des Gefäßsystems
in R.F. SCHMIDT, G. THEWS: Physiologie des Menschen
S. 400; 1977

Herrn Prof. Dr. D. Plester danke ich für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes, Herrn Dr. Giebel für die Einführung und die Anleitung während der gesamten Durchführung der Arbeit. Ich danke Herrn Dr. Schmid für die intensive Mitarbeit bei den Tierversuchen, Herrn Dr. Galić für die Anfertigung der mikroskopischen Präparate und die Überlassung der Photographien, Herrn Ilmer für die prompte Erledigung der Photoarbeiten sowie Frau Neu und Fräulein Ruby für die Mitarbeit bei der graphischen Ausarbeitung.

Lebenslauf

Am 19. September 1955 wurde ich, Bernhard Winkler, als Sohn des Kaufmanns Albert Winkler und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Rieger, in Aalen geboren. Hier besuchte ich vom 1.4.1962 bis 31.3.1966 die Grundschule und ab 1.4.1966 das Theodor-Heuss-Gymnasium, wo ich am 30.5.1974 die Reifeprüfung ablegte. Vom Wintersemester 1974/75 bis zum Sommersemester 1978 studierte ich Zahnheilkunde an der Universität Köln, wo ich am 9.10.1975 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 11.4.1978 die zahnärztliche Vorprüfung ablegte. Zum Wintersemester 1978/79 setzte ich mein Studium an der Universität Tübingen fort und legte hier am 11.12.1980 die zahnärztliche Prüfung ab. Vom 1.4.1981 bis 30.6.1982 leistete ich meinen Grundwehrdienst als Stabsarzt bei der Bundeswehr ab und bin seit 1.7.1982 als Assistenzzahnarzt in der Zahnarztpraxis Beifuß in Ellwangen tätig.